Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn.
Direktor: Prof. Dr. Selter.

Beitrag zur kulturellen Diphtheriediagnose.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich Wilhelms-Universität

zu Bonn.

Vorgelegt am 16. Juli 1938

von

Friedrich König

aus Witten/Ruhr.

Druck H. Trapp, Bonn, Stiftsgasse 11 / 1938.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Bonn.

Referent: Prof. Dr. Selter.

Korreferent: Prof. Dr. Martini.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Zur Sicherstellung der klinischen Diphtheriediagnose ist die bakteriologische Untersuchung von großer Bedeutung. Das kulturelle Verfahren, wie es heute allgemeine Anwendung findet, nämlich Ausstreichen von verdächtigem Nasen- oder Rachensekret auf Löffler-Serumplatten ist an eine Zeitdauer von wenigstens 18, oft mehr als 24 bzw. 48 Stunden gebunden. Der Nachteil dieser Wartezeit auf die bakteriologische Diagnose bedeutet für die seuchenpolizeilichen Maßnahmen eine Verzögerung beim Auffinden von Bazillenträgern oder Bazillenausscheidern, für Krankenhausbetriebe und Infektionsabteilungen unter Umständen ein Abwarten, ehe eine Verlegung auf die richtige Station erfolgen kann. Da die vorschriftsmäßige Ausführung der Kulturmethode bakteriologisch geschulte Ärzte und Hilfspersonen erfordert, müssen die Abstrichtupfer an bakteriologische Untersuchungsstellen eingesandt werden. Darüber vergeht wieder eine geraume Zeit. Das Untersuchungsmaterial kann daher in den meisten Fällen nicht frisch zur Verarbeitung gelangen und erleidet durch den Transport auf dem Wattetupfer eine gewisse Bazillenschädigung. Die Ausbeute an positiven Ergebnissen kann darum weniger ergiebig sein, als bei direkten Ausstreichen des Abstrichs auf Nährbodenplatten. Schließlich haftet den Massenuntersuchungen, wie sie in steigendem Maße bei Schuluntersuchungen, Verschickung von Kindern seitens der N.S.V., Heimaufnahmen, Versendung in Ferienerholung usw. behördlich gefordert werden, der Mangel der Langwierigkeit und Umständlichkeit an. Clauberg

kommt bei gesteigerten Umgebungsuntersuchungen an den Untersuchungsämtern Berlins zu Einsendungsziffern, die zu bestimmten Zeiten 800—1000 pro Tag als Regel ausmachten und sich bis zu 2000 an einem Tage belaufen konnten. Er schildert in folgendem die Schwierigkeiten bei der üblichen Arbeitsmethode: „Die Bewältigung dieser sich immer mehr steigernden Belastung ohne Gefährdung des laufenden allgemeinen Untersuchungsbetriebes und ohne untragbare Personalvermehrung, insbesondere ohne die verantwortlichen Bakteriologen durch tägliches, stundenlanges, ermüdendes Mikroskopieren auf die Dauer für exaktes Diagnostizieren unfähig zu machen, wurde ein ernstes Problem, dessen Lösung mit den bisherigen Methoden praktisch nicht durchführbar erschien."

Aber nicht nur eine Mehrbeanspruchung an Arbeit fällt dem bisher gebräuchlichen, für Massenuntersuchungen zu umständlichen Verfahren zur Last, auch die aufgebrachten Kosten sprechen gegen die Weiterverwendung der Methode, zumal für Kinderuntersuchungen, die von der N. S. V. zur Verschickung gelangen, Kostenträger die Untersuchungsämter selber sind.

Um allen Anforderungen, die an eine ideale Untersuchungsmethode gestellt werden, gerecht zu werden, müssen daher Gesichtspunkte Berücksichtigung finden, die im Folgenden kurz aufgeführt sein mögen:

1. Verwertbarkeit in der Praxis.
2. Möglichst vollständige und rasche Erfassung von Di.-Kranken und Bazillenträgern; das bedeutet: Schnelligkeit in der Diagnosestellung, ein einfaches, arbeitsentlastendes, billiges, genaues, für Massenuntersuchungen geeignetes Verfahren.

Für den Nährboden insbesonders gelten folgende Bedingungen:

1. Absolute Spezifität, d. h. charakteristisches Wachstum unter gleichzeitiger Hemmung der Begleitflora. Bei mikroskopischer Untersuchung z. B. kräftige Polkörperchenbildung.
2. Sterilisierbarkeit.
3. Lagerungsfähigkeit.

Für den Abstrichtupfer:

Zuverlässige Verwendbarkeit für den Transport ohne Benachteiligung des Abstrichmaterials.

Aus der Fülle der in der Literatur bekannten Versuche, die sich um eine Verbesserung in der bakteriologischen Di.-Diagnose bemühen, sind nur wenige zur praktischen Verwertbarkeit gelangt. Die überwiegende Mehrzahl der Arbeiten zur Erreichung eines besseren Verfahrens für die Di.-Diagnose gingen von den „gleichen" Gesichtspunkten aus, nämlich einen Nährboden zu schaffen, der die gebräuchliche Löffler-Platte übertreffen sollte in Bezug auf Wachstumsanregung, guter Entwicklung der Di.-Bazillen, Zurückhaltung der Begleitbakterien und besserer mikroskopischer Differenzierung zwischen Di.- und Di.-ähnlichen Bazillen. Bisher haben alle diese Nährböden ihre Unterlegenheit der Löffler-Platte gegenüber bewiesen; denn die Löffler-Platte hat immer noch die größte Ausbeute an positiven Ergebnissen im Vergleich zu anderen Nährböden gebracht.

Von anderen Gedanken geleitet ging Clauberg an das Problem der Di.-Diagnose heran. Wie oben bereits erwähnt, beschäftigten ihn die Schwierigkeiten, die an Untersuchungsämtern bei Masseneinsendungen

von Di.-Abstrichen auftraten. Er stellte sich daher die Aufgabe, einen Nährboden herzustellen, der den Wegfall der im Anschluß an die Neisser-Färbung nachfolgenden mikroskopischen Untersuchung bezweckte und eine rein makroskopische Erkennung der auf der Platte zur Entwicklung gelangten Keime ermöglichen sollte. Das Problem ist durch seine Blutwasser-Glyzerolat-Tellur-Nährplatte gelöst und bereits weitgehendst in die Praxis umgesetzt. So wird seit einigen Jahren im Hauptgesundheitsamt Berlin nur noch die „Clauberg-Platte" verwandt, während sie an den meisten bakteriologischen Untersuchungsämtern „neben" der Löffler-Platte gebraucht wird. Clauberg hat außer Hinzufügung eines Indikators die Platte durch weitere Zusätze zum Zwecke der Wachstumsanregung derart verbessert, daß er schon nach 12stündiger Brutzeit zu einem makroskopisch erkennbaren Resultat gelangen will. Die Beurteilung der Platten erfolgt mittels der Farbreaktion. Kolonien echter Di.-Bazillen wachsen mit einem deutlich erkennbaren blauen Hof, während Pseudo-Di.-Bazillen das Nährmaterial unverändert lassen, bzw. einen Hof in einem anderen, gut unterschiedlichen Farbton zeigen.

Die Methode Clauberg's ist vielfach nachgeprüft und der Prozentsatz an positiver Ausbeute im Vergleich mit der Löffler-Platte errechnet worden. Beide Methoden wurden auf diese Weise und nach anderen Gesichtspunkten bezgl. ihrer Brauchbarkeit miteinander abgewogen. Auf Grund von Vergleichszahlen betonen einige Autoren die Überlegenheit des Clauberg'schen Nährbodens gegenüber dem Löffler-Serum (siehe Zopoth und Hasenbach). Schmidt kommt zu einer Übereinstimmung der Ergebnisse bis zu 90% bei 12stündiger Bebrütung, bis zu 95% bei

36stündiger Bebrütung. Bender und Bruns finden eine bessere Brauchbarkeit des Clauberg'schen Nährbodens bei Untersuchungen von Di.-Kranken und Rekonvaleszenten, während sie dem Löffler-Serum bei prophylaktischen Untersuchungen den Vorzug geben. Andererseits glaubten Pesch und Dahr gerade bei Reihenuntersuchungen auf die Löffler-Platte verzichten zu können. Zopoth berichtet, daß 3 % der Di.-Stämme nicht auf dem Clauberg-Nährboden wachsen.

Aus den Berichten über die Erfahrungen mit dem Clauberg-Nährboden geht keine einheitliche Stellungnahme für oder wider seine Brauchbarkeit hervor. Jedenfalls deutet alles darauf hin, daß er zwar keinen vollständigen Ersatz der Löffler-Platte darstellen kann, aber als Ergänzung neben der Löffler-Platte durchaus seinen Platz behaupten darf. Gerade bei Masseneinsendungen von prophylaktisch vorgenommenen Rachenabstrichen dürfte der Clauberg-Nährboden erheblich zur Entlastung der bakteriologischen Institute beitragen, und in Fällen, in denen die makroskopische Diagnose zweifelhaft erscheint, kann nebenher immer noch die Löffler-Platte mit zu Rate gezogen werden.

Aus der Allgemeinpraxis wird darüber berichtet, daß Fälle, die klinisch eindeutig sind und ein schweres Krankheitsbild darstellen, vielfach nicht mit der bakteriologischen Diagnose übereinstimmen, also entweder überhaupt kein bakteriologisches Ergebnis liefern, oder nur schwach positiv von den Untersuchungsämtern bezeichnet werden können. Andererseits sollen leichte klinisch in Erscheinung tretende, oder mehr als zweifelhaft zu bezeichnende Fälle öfter einen schweren bakteriologischen Befund aufweisen. Gray und

Stone haben bereits darauf hingewiesen, daß 1—2% aller Abstriche positive Resultate liefern, ohne mit dem klinischen Bild übereinzustimmen. Mit diesen Resultaten, die sich bei Anwendung des Löffler- wie des Clauberg-Nährbodens gelegentlich herausstellen, muß auf die Gefahr hin, daß freie Personen irrtümlich in Abteilungen für ansteckende Krankheiten gelangen können, immerhin gerechnet werden. Wichtiger ist es, für das Mißverhältnis zwischen einem schweren klinischen und dem negativen oder kaum positiv zu nennenden bakteriologischen Befund eine Erklärung zu finden und den Mangel, der der kulturellen Methode dabei zukommt, zu beseitigen.

In dieser Richtung ist Riemsdijk vorgegangen, von dem Gedanken ausgehend, daß mit der bisher üblichen Methode der Versendung von Rachen- und Nasenabstrichen auf den Wattetupfern eine Schädigung nicht zu vermeiden ist. In der Arbeit über die Lebensdauer der Di.-Bazillen am Abstrichtupfer stellte Verfasser zunächst einmal die „verschiedene" Feuchtigkeit der abgestrichenen und dem Institut zugesandten Wattetupfer fest und konnte teilweise gänzlich ausgetrocknete Tupfer nachweisen. Versuche, die bezüglich der Vitalität der Di.-Bazillen an verschieden feuchten Tupfern vorgenommen wurden, fielen zu Gunsten der ganz feuchten Tupfer aus, sodaß Riemsdijk damit eine geringe Widerstandsfähigkeit der Di.-Bazillen gegen Austrocknung nachweisen konnte.

Durch Austrocknung gehen also viele Di.-Bazillen zugrunde. Da der Versand von Abstrichmaterial auf dem Lande durch ungünstigen Bahnanschluß häufig Tage beansprucht, ehe das Material zur bakteriologischen Verarbeitung gelangen kann, so ist die Gefahr des gänzlichen Austrocknens der Abstrichtupfer

leicht zu erklären. Bei schweren Erkrankungen mit hohem Fieber wird sowieso nur eine geringe Menge feuchtes Sekret aus dem durch das Fieber bedingten trockenen Rachen mit auf den Tupfer gelangen können.

Aus alledem geht hervor, daß unter diesen Voraussetzungen das klinische Bild oft mit dem bakteriologischen Befund nicht übereinstimmen kann. Daher betonen Bender und Bruns am Schluß ihrer Abhandlung über die Bedeutung der bakteriologischen Massenuntersuchungen für die Bekämpfung der Di.: „Je besser das Untersuchungsmaterial geeignet ist und je frischer es zur Verarbeitung kommt, umso ergiebiger ist die Ausbeute an positiven Ergebnissen". Für das Beste wird noch direktes Ausstreichen des Abstriches am Krankenbett auf Nährboden-Platten gehalten. Dies läßt sich jedoch praktisch nur selten durchführen.

Riemsdijk beschäftigte sich deshalb im Anschluß an die oben erwähnten Versuche mit einer Anreicherung der Di.-Bazillen schon auf dem Wattetupfer, sodaß damit eine Vermehrung anstelle der nachgewiesenen Zerstörung der Di.-Bazillen auf dem Wege nach den Untersuchungsämtern stattfinden kann. Der Anreicherungsnährboden, der nur für den Transport bis zur bakteriologischen Verarbeitung seinen Zweck erfüllen soll, ist ein Pferdeserum-Agar-Gel und findet in einem schmalen Reagenzrohr zusammen mit dem gebräuchlichen Röhrchen, in dem der Tupfer steckt, beim Abstrich und Versand seine Verwendung. Nach dem üblichen Rachenabstrich wird der Tupfer einfach in das Röhrchen mit dem Anreicherungsnährboden umgesteckt und so zur Untersuchung eingesandt. Dort wird der Tupfer entweder sofort oder nach 6stündiger Vorbebrütung bei 37 Grad auf die Löffler-Platte aus-

gestrichen, und nach weiterer 24stündiger Brutzeit werden die auf der Platte gewachsenen Keime mikroskopisch untersucht. Riemsdijk hat gefunden, daß die am Tupfer haftenden Di.-Bazillen — von Gelmasse umgeben — während des Transportes nicht eintrocknen können, ihre Lebensfähigkeit in dem Nährmaterial erhöhen und sich darin anreichern. Vergleichsuntersuchungen haben ergeben, daß die Zahl an positiven Bazillenbefunden auf der Löffler-Platte unter Verwendung des erstarrten Pferdeserum-Agar-Gel's eine viel größere ist, als wenn das Gel nicht benutzt wurde.

Eine der neueren Arbeiten auf dem Gebiete der bakteriologischen Di.-Diagnose, die nächst dem Verfahren von Clauberg noch mit die größte Beachtung gefunden hat, ist das Wiedererstehen einer alten Methode von Folger, welche im Jahre 1899 von ihm ausgearbeitet und in der Kärntener Ärztevereinigung 1902 referiert wurde, ohne jemals eine weitere Veröffentlichung gefunden zu haben. Solé hat vor einigen Jahren durch einen Zufall von der in Vergessenheit geratenen Methode Folger's Kenntnis erhalten, dieselbe beschrieben und in ähnlicher Weise durch eine Reihe von Versuchen nachgeprüft. Es handelt sich um ein Schnellverfahren, das neben der Zeitersparnis und raschen Sicherstellung der Diagnose noch den Vorteil der einfachen und billigen Arbeitsweise für sich hat. Die Methode ist derjenigen Riemsdijk's ähnlich, läßt jedoch die nachträgliche Überimpfung und 24stündige Bebrütung auf der Löffler-Platte völlig fort und beschränkt sich auf eine ziemlich kurzdauernde Anreicherung der Di.-Bazillen auf einem mit Nährbodenmasse behafteten Wattetupfer im Brutschrank bei

37 Grad. Die Herstellung der Tupfer geschieht auf folgende Weise: Sterile Wattetupfer, wie sie für Rachen- und Nasenabstriche gewöhnlich Verwendung finden, werden in steriles Rinderserum (ohne Zusatz eines Schutzmittels) getaucht, darin getränkt, leicht gegen die Seitenwände des Röhrchens ausgedrückt, um jeden Überschuß an Serum zu entfernen, und dann sehr kurz unter drehenden Bewegungen über einer Flamme erhitzt, bis eben Dämpfe aufsteigen, um das Serum an der Oberfläche des Tupfers zum Erstarren zu bringen. Damit können die so präparierten, mit Serum überzogenen Wattetupfer, oder wie Solé sich ausdrückt: „Die Folger'schen Kulturstäbchen" zum Abstrich benutzt werden. Nach dem Abstrich werden die Tupfer sofort wieder in dieselben sterilen Röhrchen, aus denen sie entnommen sind, zurückgesteckt und kommen direkt in den Brutschrank von 37 Grad. Nach ursprünglich 4stündiger, später 3stündiger Brutzeit hat Folger dann die auf dem Tupfer gewachsenen Mikroorganismen durch drehendes Abstreichen auf einem Objektträger untersucht.

Solé benutzte für seine Nachuntersuchungen steriles Pferdeserum. Die Herstellung der Tupfer geschah in gleicher Weise. Was die Bebrütungsdauer anbetrifft, so stellte Solé fest, daß in 80 % der Fälle bereits nach 2 Stunden ein zuverlässiges positives Resultat erzielt werden konnte. In allen Fällen aber genügte eine 4stündige Brutzeit, um die einwandfreie bakteriologische Di.-Diagnose zu erbringen. Gerade das kurzdauernde Verweilen im Brutschrank hat nach Solé den Vorteil, daß sich in den wenigen Stunden auf dem für die Di.-Bazillen spezifischen Nährboden eben nur die Di.-Bazillen entwickeln können, während die übrige Flora zeitlich in der Entwicklung zurück-

bleiben muß. Bei der Nachprüfung der Methode Folger's und Gegenüberstellung der Ergebnisse mit gleichzeitig angelegten Löffler-Kulturen konnte Solé nachweisen, daß die Resultate zu 100 % miteinander übereinstimmten. Weitere Nachprüfungen der gleichen Methode von amerikanischen Autoren, wie es z. B. aus mehreren Veröffentlichungen von Brahdy und Mitarbeitern hervorgeht, konnten Solé's Resultate vollauf bestätigen. Sie behaupten, daß die beschriebene Methode nicht nur schneller und einfacher in der Ausführung ist, sondern vor allem auch genauer als die mit der gewöhnlichen Löffler-Platte. Andererseits kommen Cargill und Crowford, die an einem Material von 248 Rachenabstrichen die Folger'sche Methode nach den Angaben von Solé ausgeführt und nebenher die Löffler-Platte als Kontrolle mit herangezogen haben, zu einem ganz anderen Ergebnis. Von 264 einwandfreien Di.-Fällen konnten sie nur 77 % an positiven Resultaten nach Solé erzielen, während die Löffler-Platte eine Ausbeute von 97 % positiver Fälle erbrachte. Daher halten Cargill und Crowford die Di.-Bazillen-Diagnose nach dem Folger-Solé'schen Verfahren für unergiebiger und ungeeigneter und geben der Löffler-Platte in jedem Falle den Vorzug.

Wenn auch die Methode von Folger-Solé die bereits erwähnten Vorzüge dem Löffler'schen Kulturverfahren gegenüber aufzuweisen hat, so gibt doch die Nachprüfung von Cargill und Crowford an der Genauigkeit des Verfahrens zu Zweifeln Anlaß, trotz entgegenstehender anderer Autoren, die das Ergebnis Solé's zu 100 % bestätigen konnten. Vielleicht tragen andere Färbemethoden Schuld an den wenig übereinstimmenden Resultaten. Für die Nachprüfung der

Folger'schen Methode wurden häufig nur alkalische Methylenblaulösungen oder Toluidinblau zur Färbung verwandt. Die mikroskopische Untersuchung dürfte hierbei zu einer Überbewertung in der Erkennung von Di.-Bazillen führen, insofern als mikroskopisch sichtbare Coryne-Bakterien für die Di.-Diagnose gewöhnlich schon ausschlaggebend waren. So heißt es in einer Arbeit von Friedmann über Anreicherung der Di.-Bazillen am Abstrichtupfer: „Vor der Bebrütung evtl. vereinzelte Coryne-Bakterien, nach durchschnittlich 4—6 stündiger Bebrütung wimmelt es häufig von Coryne-Bakterien im Präparate, sodaß eine verläßliche Diagnose möglich ist." An anderer Stelle: „Bei einer Di. verändert sich das Bild völlig. Man findet zahlreiche Coryne-Bakterien und bei Neißer-Färbung meist Polkörperchen." Es müßte eine einheitliche Färbetechnik — am besten Untersuchung der Ausstrichpräparate nach Neißer-Färbung — bei weiterer notwendiger Prüfung der Folger-Solé'schen Methode auf ihre Eignung für die bakteriologische Di.-Diagnostik durchgeführt werden. Sollte sich ihre praktische Brauchbarkeit erweisen, was für die Schnelligkeit in der Diagnosestellung, Einfachheit in der Arbeitsweise und Billigkeit in der Kostenfrage einen sehr großen Vorteil bedeutet, so ist trotzdem die Methode nur unter ganz bestimmten Voraussetzungen anwendbar. Solé macht ausdrücklich darauf aufmerksam, daß die Herstellung der Tupfer nur „unmittelbar" vor der Verwendung zum Rachenabstrich vorgenommen werden darf. Den gebrauchsfertig präparierten Tupfern haftet also der Mangel der Lagerungsfähigkeit an. Somit kann die Verwendbarkeit der Methode für die Praxis nicht in Betracht kommen, und ihre Anwendungsmöglichkeit dürfte sich allein auf

Reihenuntersuchungen beschränken. Bei prophylaktischen Maßnahmen, Massenuntersuchungen etc. ist die beschriebene Anfertigung einer beliebigen Anzahl von Tupfern und ihre im Anschluß an die Fertigstellung vorgenommene Abstrichentnahme eine leicht durchführbare Maßnahme.

In analoger Weise zu Solé's Vorgehen hat Friedmann die Wattestäbchen mit einem Überzug aus flüssigem Clauberg-Nährboden (ohne Indikator-Zusatz) versehen, dieselben für den Abstrich benutzt und ihre Brauchbarkeit nach 4-, 6- und 8stündiger Bebrütung für die Di.-Diagnose erprobt. Nach durchschnittlich 4—6stündiger Brutzeit konnte bereits eine zuverlässige bakteriologische Diagnose gestellt werden. Von 65 der untersuchten Fälle waren 53 positiv. Die gleichzeitig angelegte Löffler-Kultur und der Vergleich mit dem klinischen Bild haben stets, auch in den negativen Fällen, mit dem Ergebnis dieser Methode Übereinstimmung erzielt.

Aus den Ausführungen Friedmann's, die im Vorhergehenden teilweise im Wortlaut angeführt sind, geht hervor, daß gerade er sich der gewöhnlichen Methylenblaufärbung bedient hat, um zu einer mikroskopischen Diagnose zu gelangen. Die Gründe, die unter diesen Voraussetzungen einer zuverlässigen Di.-Diagnose entgegenstehen, sind ebenfalls bereits erwähnt. Ein Fortschritt in der Arbeitsweise Friedmann's gegenüber der von Solé besteht darin, daß die zum Abstrich fertiggestellten Stäbchen für etwa 8—10 Tage aufbewahrt werden können, ohne ihre Brauchbarkeit als „Kulturstäbchen" dabei zu verlieren. Nach dem Eintauchen in den flüssigen Clauberg-Nährboden werden die an der Oberfläche feuchten Tupfer

in Röhrchen mit einer geringen Menge Flüssigkeit am Boden gesteckt und so im Eisschrank aufbewahrt. Auf diese Weise soll die Gefahr des Eintrocknens der Tupfer verhindert werden und die Haltbarkeit des Nährbodens am Stäbchen für kurze Zeit bewahrt bleiben.

Die in folgendem beschriebenen eigenen Versuche sind in Anlehnung an die Arbeitsmethode Solé's und Friedmann's vorgenommen worden. Anstelle der üblichen Kupferstäbchen wurden Holzstäbchen verwandt, um etwaige bakterizide Eigenschaften des Kupfers auf den mit den Bakterien der Rachenflora infizierten Wattetupfer von vornherein auszuschalten. Daß die Farbänderung der mit Nährbodenmasse versehenen Wattetupfer nach längerem Stehen eine Folge des Einflusses des sich lösenden Kupfers auf den Tupfer sein soll, hat sich als Irrtum erwiesen. Der Farbumschlag von rubinrot nach braun, den Friedmann bei seinen mit Clauberg-Nährboden getränkten Wattetupfern beobachtete und beschrieb, konnte auch bei den „Holzstäbchenwattetupfern" nachgewiesen werden. Als Nährboden für den Wattetupfer kam das fertige Löffler-Serumgemisch und gleichzeitig als Nachprüfung der Friedmann'schen Versuche der Nährboden nach Clauberg in Betracht. Zu dem Löffler-Serum wurde noch ein Glyzerin-Zusatz (5 %) hinzugefügt, um damit die Haltbarkeit des Serums am Tupfer zu erhöhen. Gray und Stone haben nämlich in einer Arbeit über den Vergleich mit verschiedenen Kulturmethoden an 2000 Di.-Abstrich-Präparaten den Nachweis erbracht, daß das Löffler-Serum mit einem Zusatz von 5 % Glyzerin einen etwas höheren Prozentsatz positiver Resultate liefert, als Löffler-Serum

ohne Glyzerin. Sie stellten jedoch fest, daß das Glyzerin lediglich dazu geeignet ist, das Eintrocknen des Nährbodens zu verzögern. Die Zubereitung des Nährbodenmaterials geschah in üblicher Weise. Bei der Herstellung des Blutglyzerolat-Kaliumtelluragar von Clauberg erübrigte sich der Indikator-Zusatz. Die beiden frisch hergestellten Nährböden wurden nun (jeder Nährboden für sich) in flüssigem Zustande in kleine Glasröhrchen von 25 mm Länge und 6 mm Durchmesser eingefüllt, deren Volumen der Größe der Tupfer gerade angepaßt war. Beim Einfüllen ist die Clauberg-Nährmasse bei einer Temperatur von +54 Grad flüssig gehalten worden. In die kleinen Glasröhrchen wurden dann die bereit gehaltenen Holzstäbchen so eingesteckt, daß die Wattetupferenden gerade hinein paßten, mit Nährbodenmasse durchtränkt und von ihr umgeben waren. Die Holzstäbchen, an deren Wattetupferenden die gefüllten Glasröhrchen hafteten, konnten nun in die gewöhnlichen Abstrichröhrchen gesteckt und mittels Korken verschlossen werden. Während die Clauberg-Nährmasse in den kleinen Röhrchen durch Abkühlung von selbst erstarrte, wurde das Löffler-Serum erst im Erstarrungsschrank bei 80 Grad Wärme fest. Die Nährbodenmasse konnte jetzt in festem Zustande am Tupfer, dem das kleine, ihn umgebende Röhrchen wie eine Schutzkappe aufsaß, haften. Damit waren die Abstrichtupfer gebrauchsfertig und kamen zur Aufbewahrung in den Eisschrank. Spätestens nach einer Woche wurden die nicht zum Abstrich benutzten Tupfer herausgenommen und neue Tupfer mit frisch zubereitetem Nährboden angefertigt. Es hatte sich herausgestellt, daß trotz der Aufbewahrung im Eisschrank und des am Boden des Röhrchens sich ansammelnden Kondenswassers die Tupfer

bald an genügendem Feuchtigkeitsgehalt verloren und damit für den Abstrich ungeeignet waren. Bei der stets persönlich vorgenommenen Abstrichnahme wurden die Stäbchen aus den Glasröhren genommen und die kleinen Röhrchen von den Tupfern abgestreift. Der im Überschuß am Tupfer hängende Nährboden blieb beim Abstreifen zurück. Nun wurden mit den Nährbodentupfern die Tonsillen, bzw. die Nasenschleimhaut abgestrichen, wobei die Kranken nach Möglichkeit nüchtern geblieben waren und noch nicht gegurgelt hatten. Nach dem Abstrich wurden die Stäbchen — nunmehr ohne Schutzkappe — in die größeren Röhrchen zurückgesteckt und gleich in den Brutschrank von 37 Grad gestellt. In gewissen Zeitabständen kamen die Röhrchen aus dem Brutschrank heraus, und die auf dem Nährbodentupfer gewachsenen Keime wurden durch drehendes Ausstreichen auf einen Objektträger übertragen und in gewöhnlicher Weise zur mikroskopischen Untersuchung weiter verarbeitet. Gleichzeitig mit der Untersuchung des Abstrichmaterials, das auf dem Löffler- und Clauberg-Nährbodentupfer gewachsen war, wurde zur Kontrolle eine Löffler-Kultur angelegt, sodaß von jedem Patienten 3 Abstriche gemacht werden mußten. In folgender Tabelle sind nur die Fälle angeführt, bei denen es sich um einwandfrei festgestellte Di.-Kranke bzw. Bazillenträger handelte.

Insgesamt gelangten 40 Rachen- bzw. Nasen-Abstriche aus der Medizinischen Klinik Bonn, Süd-Sanatorium Dottendorf und Markusstift Godesberg in der Zeit vom 1. 1. 1938 bis 15. 4. 1938 zur Untersuchung.

Pro Person wurden 3 Abstriche entnommen je mit A — B — C Tupfern.

Holzstäbchen: A-Tupfer = getränkt mit Löffler-Serum und Glyzerinzusatz (5%)
B-Tupfer getränkt mit Clauberg Nährboden.

Kupferstäbchen:
C-Tupfer = gewöhnlicher unpräparierter Tupfer.

Die A- und B-Tupfer kamen für je 24 und 48 Std. in den Brutschrank, anschließend erfolgte jeweils mikroskopische Untersuchung nach Neisser-Färbung.

Später wurde auch schon nach 6stündiger Bebrütung mikroskopisch untersucht und neben der Neißer-Färbung auch Methylenblaufärbung verwandt.

Die C-Tupfer wurden auf Löffler-Serumplatten ausgestrichen und nach 24 bis 28stündiger Bebrütung untersucht.

Tabelle I.

Übersicht über vergleichende Kulturmethoden.
(Gesamtzahl der Abstriche: 40).

Methode	6 Stunden		24 Stunden		48 Stunden		Färbung
	+	—	+	—	+	—	
Löfflerplatte (C)			22	7	40	0	Neißer
Modifizierte Kulturstäbchenmethode (Solé) (A)	0	20	1	31	1	39	Neißer
	3	27					Methylenblau
Modifizierte Kulturstäbchenmethode (Friedmann) (B)	0	20	2	38	0	40	Neißer
	3	27					Methylenblau

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Kulturstäbchenperiode mit fertigem Löffler-Serum und Clauberg'schem Nährboden zu einem unerwartet negativen Resultat geführt hat. Der eingeschlagene kulturelle Weg, die Di.-Diagnose zu vereinfachen, ist also nicht gangbar. Eine direkte Vergleichsmöglichkeit mit den Folger-Solé'schen Versuchen ist nicht gegeben, da Folger und Solé in jedem Falle frisch zubereitete Serum verwandten. Wohl können die eigenen Versuche teilweise als Nachprüfung der Friedmann'schen Untersuchung aufgefaßt werden, zu denen ihre Ergebnisse in völligem Widerspruch stehen. Die eigene Methode ist unter Ausschaltung aller in Betracht kommender Fehlerquellen, die bei der Verarbeitung des Materials, in der Färbetechnik und mikroskopischen Beurteilung auftreten können, durchgeführt worden. Während die auf der Löffler-Platte gewachsenen Kulturen bei mikroskopischer Untersuchung oft ganze Nester von Di.-Bazillen erkennen ließen, zeigte sich im Abstrichpräparat der zum gleichen Rachenabstrich gehörenden beiden Kulturstäbchen zwar eine reichlich entwickelte Bakterienflora, aber keine Form von Stäbchen, die den Di.-Bazillen ähnlich war. Drei Fälle waren schwach positiv bis einfach positiv zu bezeichnen. Hier konnten die vereinzelt und in verschiedenen Gesichtsfeldern liegenden Di.-Bazillen erst durch längeres mühsames Suchen gefunden werden.

Die lange Bebrütungszeit der Nährbodentupfer von 24 und 48 Stunden konnte vielleicht den Nachteil haben, daß die ursprünglich sich schnell entwickelnden Kolonien der Di.-Bazillen durch späteres starkes Heranwachsen der Begleitbakterien überwuchert wurden. Die Annahme hat sich nicht bestätigt. Bei einem Heruntergehen auf 6 Stunden Brutzeit war der gleiche

Mißerfolg vorhanden, obwohl Solé gerade das kurze Verweilen der Tupfer im Brutschrank mit einer besseren Entwicklungsmöglichkeit der Di.-Bazillen erklärt, während die übrige Flora noch im Wachstum gehemmt blieb. Auch das nach einigen Stunden schon nachweisbare Auftreten von massenhaften Coryne-Bakterien im Präparat, wie sie Friedmann feststellen konnte, ist bei den eigenen, mit alkalischer Methylenblaulösung gefärbten Präparaten nicht beobachtet worden. (Wohl konnten von 30 Abstrichen nach 6stündiger Brutzeit vier Abstriche als einfach positiv bezeichnet werden.) Bei einer Polkörperchenfärbung nach Neißer wären wahrscheinlich nicht so überzeugende Resultate mit der Nährbodentupfermethode erzielt, wie von Solé, Friedmann und anderen Nachprüfern berichtet wird. Die Kritik Cargill's und Crowford's an der Methode Solé's soll hier noch einmal hervorgehoben werden. Für das gänzliche Versagen der eigenen Untersuchungen mit der Tupfermethode läßt sich keine ausreichende Erklärung finden. Ohne entsprechende Modifikation der Solé'schen Methode spricht die kurze Lebensdauer der Kulturstäbchen in jedem Falle gegen ihre praktische Verwendbarkeit. Sie könnte höchstens noch für Massenuntersuchungen als Konkurrenz zur Clauberg-Platte in Betracht kommen. Aber nach allen bisher vorliegenden Erfahrungen ist die Genauigkeit der Ergebnisse mit der Indikator-Tellur-Nährplatte zu oft erprobt, die bedeutend vereinfachte Arbeitsweise durch Ausschaltung des Mikroskops zu einleuchtend, als daß die Nährboden-Tupfermethode an den Wert der Clauberg-Platte heranreichen könnte. Auch sie stellt hinwiederum noch keinen vollständigen Ersatz der Löffler-Platte dar, sodaß von einer vollständigen Neuorientierung der

bakteriologischen Di.-Diagnose noch nicht die Rede sein kann.

Schlußsätze:

1. An Hand der Literaturangaben wurde die bakteriologische Di.-Diagnostik einer kritischen Besprechung unterzogen, wobei die Methoden von Folger, Solé und Friedmann besonders gewürdigt wurden.

2. Eine nach praktischen Bedürfnissen modifizierte Nachprüfung der Kulturstäbchenmethode führt zu völlig unbefriedigenden Ergebnissen.

Zum Schluß sei es mir gestattet, Herrn Prof. Dr. Selter für die Überlassung des Themas meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Auch Herrn Doz. Dr. Weiland, Oberassistent am Hygienischen Institut der Universität Bonn, sage ich für seine wertvollen Anregungen meinen besten Dank.

Literaturverzeichnis.

1. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. 117 1935 Ref. (K. W. Clauberg: Zur Technik bakteriologischer Massenuntersuchungen von Di.-Abstrichen.)
2. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. 117 1935 Ref. (Brahdy: Comparison of a rapid method and the routine Loefflers method for diagnosis of diphtheria.)
3. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. 119 1935 Ref. (Pesch, K. L. u. Dahr P.: Di.-Bakteriennachweis durch Anreicherung oder durch direkte kulturelle Methoden.)
4. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. 119, 1935 Ref. (Hasenbach, J.: Welche Vorteile bietet der Clauberg-Tellur-Nährboden in der bakteriologischen Di.-Diagnostik?)
5. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. 120, 1936, Ref. (Brahdy: A rapid method for the identification of diphtheria bacilli, also a new method for identification of carries of diphteria bazilli.)
6. Ztbl. f. Bakt. 1. Abt. 122, 1936, Ref. (Gray and Stone: Comparision of cultural methods for routine diphteria diagnosis.)
7. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. 122, 1936, Ref. (Zopoth, J.: La culture des bacilles diphteriques sur les milieux telluriques.)
8. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. 123, 1936 Ref. (Schmidt, Bruno: Erfahrungen über die praktische Verwertbarkeit der neuen von Clauberg angegebenen Tellur-Indikatorplatte zur makroskopischen Di.-Bazillen-Diagnostik.)
9. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. 1936, Ref. (Bender und Bruns: Die Bedeutung der bakteriologischen Massenuntersuchungen für die Bekämpfung der Di.)
10. Zbl. f. Bakt. 1. Abt. 124, 1937, Ref. (Friedmann: Eine einfache bakteriologische Methode zur schnelleren Di.-Diagnose.)
11. Ztbl. f. Bakt. 1. Abt. 126, 1936, Ref. (Cargill and Crawford: The early bacteriological diagnosis of diphteria.)
12. Ztschr. f. Hyg. und Infektionskrankheiten Bd. 103 (1924) S. 106 ff. Über die Lebensdauer der Di.-Bazillen am Wattetupfer und eine einfache Methode, die Vitalität derselben zu erhöhen. Von W. van Riemsdijk.
13. Wiener klin. Wschr. 47, 1. 1934 S. 713/714: Schnellkultur von Di.-Bazillen. Von A. Solé.
14. Klin. Wschr. 1937, I 352/353: Zur Anreicherung der Di.-Bazillen am Abstrichtupfer. Von E. Friedmann.

Lebenslauf.

Als Sohn des Dipl.-Ing. Rudolf König am 24. 2. 1904 in Gelsenkirchen geboren, besuchte ich die Schulen in Emden, Witten und Jena und wurde Ostern 1914 in die Sexta des Gymnasiums zu Jena aufgenommen. Weiter besuchte ich die Gymnasien in Neustrelitz, Lübeck und Münster. In Münster erhielt ich im Februar 1925 das Zeugnis der Reife. Anschließend studierte ich in Erlangen und Göttingen Jura bis W.-S. 30/31. Seit S.-S. 31 widmete ich mich dem mediz. Studium in Bonn und Münster bis zum Physikum 1933, in Würzburg, Köln und Bonn bis zum Staatsexamen, das ich im Februar 1937 bestand.

Meine Medizinalpraktikantenzeit verbrachte ich in Teupitz, Krs. Teltow, an der Brandenburgischen Landesanstalt, in Berlin-Buch am Hufeland-Hospital und an der Universitäts-Frauenklinik in Bonn.

Seit meiner Bestallung als Arzt, 2. III. 38, war ich Volontärarzt am Hygien. Institut in Bonn und habe in der letzten Zeit prakt. Ärzte vertreten.